

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/053261

International filing date: 03 December 2004 (03.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FR  
Number: 03 50967  
Filing date: 04 December 2003 (04.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 26 January 2005 (26.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



PCT/EP 2004 / 05 3 2 0 1

10. 12. 2004

# BREVET D'INVENTION

**CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION****COPIE OFFICIELLE**

REC'D 26 JAN 2005	
WIPO	PCT

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 15 NOV. 2004

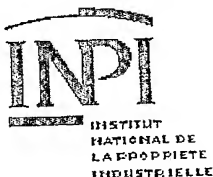
Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr





# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITE

26bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cédex 08  
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B 14552 PM-DD2667YL	

<b>1 NATURE DE LA DEMANDE</b>			
Demande de brevet			
<b>2 TITRE DE L'INVENTION</b>			
DISPOSITIF DE SEPARATION D'OBJETS PAR VOIE OPTIQUE.			
<b>3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE</b>		Pays ou organisation	Date N°
<b>4-1 DEMANDEUR</b>		COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE	
Nom		31-33, rue de la Fédération	
Rue		75752 PARIS 15ème	
Code postal et ville		France	
Pays		France	
Nationalité		Etablissement Public de Caractère Scientifique, Technique et Indu	
Forme juridique			
<b>5A MANDATAIRE</b>		LEHU	
Nom		Jean	
Prénom		Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068	
Qualité		BREVATOME	
Cabinet ou Société		3, rue du Docteur Lancereaux	
Rue		75008 PARIS	
Code postal et ville		01 53 83 94 00	
N° de téléphone		01 45 63 83 33	
N° de télécopie		brevets.patents@brevallex.com	
Courrier électronique			
<b>6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS</b>		Fichier électronique	Pages
Texte du brevet		textebrevet.pdf	17
Dessins		dessins.pdf	4
Désignation d'inventeurs		D 14, R 2, AB 1	
Pouvoir général		page 4, figures 12, Abrégé: page 2, Fig.4	

<b>7 MODE DE PAIEMENT</b>				
Mode de paiement		Prélèvement du compte courant		
Numéro du compte client		024		
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>				
Etablissement immédiat				
<b>9 REDEVANCES JOINTES</b>				
	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
062 Dépôt	EURO	0.00	1.00	0.00
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	320.00	1.00	320.00
068 Revendication à partir de la 11ème	EURO	15.00	1.00	15.00
Total à acquitter	EURO			335.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



## BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

### Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : X

Demande de CU :

<b>DATE DE RECEPTION</b>	4 décembre 2003	
<b>TYPE DE DEPOT</b>	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	Dépôt en ligne: X Dépôt sur support CD:
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI</b>	0350967	
<b>Vos références pour ce dossier</b>	B 14552 PM-DD2667YL	

**DEMANDEUR**

Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	1
Pays	FR

**TITRE DE L'INVENTION**

DISPOSITIF DE SEPARATION D'OBJETS PAR VOIE OPTIQUE.

**DOCUMENTS ENVOYES**

package-data.xml	Requetefr.PDF	fee-sheet.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	textebrevet.pdf
FR-office-specific-info.xml	application-body.xml	request.xml
dessins.pdf	indication-bio-deposit.xml	

**EFFECTUE PAR**

Effectué par:	J. Lehu
Date et heure de réception électronique:	4 décembre 2003 16:20:52
Empreinte officielle du dépôt	3F:37:25:67:38:B3:19:D9:6F:6E:76:97:47:83:68:0B:2D:4D:48:08

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL  
INSTITUT 26 bis, rue de Saint Petersburg  
NATIONAL DE 75800 PARIS cedex 08  
LA PROPRIÉTÉ Téléphone : 01 53 04 53 04  
INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 93 59 30

## DISPOSITIF DE SEPARATION D'OBJETS PAR VOIE OPTIQUE

## DESCRIPTION

## DOMAINE TECHNIQUE ET ART ANTERIEUR

5 L'invention concerne le domaine du tri et de l'analyse de petites particules. Ces dernières peuvent être des cellules (particules biologiques, liposomes, cellules animales ou végétales, virus ou microorganismes), des macromolécules (ADN ou ARN ou  
10 protéines) ou des microbilles. Les domaines d'applications peuvent être alors l'analyse chimique ou biomédicale ou le contrôle qualité (calibration de microparticules).

Les approches connues en matière de tri  
15 cellulaire de particules, comme la cytométrie en flux, trouvent leurs limites notamment pour l'analyse de populations cellulaires rares ou très minoritaires.

La technique des pinces optiques, décrite par exemple dans Ashkin et Dziedzic, « observation of  
20 radiation pressure trapping of particles by alternating light beams », Phys. Rev. Letters, 54(12), 1985, repose sur le confinement d'une particule (microbille, ou cellule, ou macromolécule) par le gradient d'intensité généré au cœur (« waist ») d'un faisceau laser continu.  
25 Cette opération est rendue possible par l'équilibrage des pressions de radiations. Une fois cette opération réalisée, on déplace la particule en déplaçant le faisceau.

Aussi, les distances de déplacement de la  
particule sont limitées par la puissance du laser.

Enfin, le tri de particules métalliques n'est pas possible.

La figure 1 représente le principe d'un tel dispositif.

5 Une particule 2 est confinée par un faisceau 4 dans un milieu liquide 6.

La figure 2 est un diagramme représentant un champ de force engendré par le dispositif, de part et d'autre du faisceau laser 4 : la particule se trouve  
10 confinée dans un champ de forces mécaniques (induit par la pression de radiation provoquée par le champ électromagnétique du laser), ce qui permet de la piéger.

Ce type de dispositif présente deux  
15 inconvénients : le déplacement des particules repose sur l'emploi d'un système mécanique dédié, qui peut s'avérer délicat et coûteux à mettre en place.

De plus, il est exclu de réaliser une  
quelconque séparation des espèces en fonction de leurs  
20 caractéristiques de forme ou de taille, sans faire appel à un dispositif de reconnaissance, automatique ou manuel.

De récents travaux, tels que décrits par  
exemple dans l'article de T.Tanaka et al., paru dans  
25 Applied Physics Letters, Vol. 77, P. 3131, 2000 font appel à des dispositifs d'optique guidée, et suggèrent la possibilité de concevoir un dispositif de déplacement cellulaire par des forces optiques.

Comme illustré sur la figure 3, ce  
30 dispositif utilise un guide d'ondes 10 à ruban réalisé sur un substrat 12. Une particule est déplacée par une



force de pression photonique, qui est proportionnelle à l'intensité lumineuse au niveau de cette dernière. La particule est maintenue sur le guide par une force qui est proportionnelle au gradient de l'intensité.

5 Dans le cas où le guide d'onde est monomode, il existe un maxima d'intensité lumineuse, en fait là où va se retrouver piégée la particule.

Il se pose le problème de trouver un nouveau procédé et un nouveau dispositif permettant de  
10 trier des particules de manière simple et efficace.

En particulier, en biologie, il est courant de fixer des particules, comme des billes, à des cellules. Cependant, les rendements de marquage ne sont pas parfaits et il reste toujours des billes en  
15 solution qui ne sont pas fixées et peuvent s'avérer gênantes. Des solutions comme les pinces optiques ne permettent pas de réaliser cette séparation de manière simple. En effet ces solutions nécessitent de séparer les particules une à une. Il se pose donc également le  
20 problème de séparer, de manière simple et efficace, des particules, non fixées, et des cellules marquées avec de telles particules.

#### EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne des systèmes pour  
25 trier des particules ou des objets, par exemple d'intérêt biologique.

L'invention concerne plus spécifiquement un procédé de séparation de particules de billes  
L'invention concerne plus spécifiquement un procédé de séparation de particules de billes

- l'introduction d'un rayonnement, dans un guide d'onde, couplé à un deuxième guide dans une zone de couplage, ce rayonnement permettant d'entraîner l'ensemble des particules vers la zone de couplage,

5                   - la séparation des particules, lors de leur passage dans la zone de couplage.

L'invention met en œuvre au moins deux guides d'ondes, couplés dans une zone de couplage, de longueur par exemple comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$ . La  
10 distance entre les guides dans la zone de couplage, est inférieure à quelques micromètres, par exemple inférieure à 5  $\mu\text{m}$ .

Des particules de tailles différentes peuvent alors être séparées : les particules à trier  
15 sont initialement situées au voisinage d'une portion non couplée du premier guide, dans lequel de la lumière est injectée. Cette lumière produit une onde évanescente, qui permet de déplacer l'ensemble des  
particules. A l'approche de la zone de couplage, se  
20 produit une zone d'interaction et de perturbation du profil de l'intensité lumineuse de l'onde évanescente. Un « super mode », induit par le couplage, permet d'entraîner les particules de taille plus importante vers le deuxième guide.

25                   La lumière injectée dans un des deux guides est comprise entre l'ultra-violet et l'infra-rouge.

Les particules triées peuvent être des microbilles et des cellules biologiques marquées de micro-billes. L'invention permet d'effectuer cette  
30 séparation de manière efficace, simple et collective.

L'invention concerne également un dispositif de séparation de particules, comportant deux guides optiques couplés par une zone de couplage de longueur comprise entre 10 et 50  $\mu\text{m}$ , dans laquelle la distance entre les guides est inférieure à 5  $\mu\text{m}$ .

Le procédé et le dispositif selon l'invention mettent en œuvre des forces optiques pour la séparation de particules.

Des moyens peuvent en outre permettre d'envoyer dans un des guides un rayonnement de longueur d'onde comprise entre 300 nm et 1,2  $\mu\text{m}$ , ou entre 1  $\mu\text{m}$  et 1,2  $\mu\text{m}$ .

Des moyens de visualisation permettent de visualiser une séparation de particules.

#### 15 BREVE DESCRIPTION DES FIGURES

- les figures 1 à 3 illustrent des techniques connues de l'art antérieur,
- la figure 4 représente un dispositif selon l'invention,
- 20 - les figures 5A et 5B représentent l'effet d'un couplage sur des particules,
- les figures 6A - 7 représentent des étapes de réalisation d'un dispositif selon l'invention,
- la figure 8 représente une utilisation d'un
- 25 dispositif selon l'invention.

#### EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

Sur la figure 1, un dispositif selon l'invention est représenté.

être monomode ou multimode. Les deux guides peuvent être de dimensions et de matériaux différents, et notamment d'indices optiques différents.

Un rayonnement lumineux 39, injecté dans le  
5 guide 20, dans une zone de non-couplage des guides, produit une onde évanescente à l'extérieur du guide, qui va permettre de déplacer des particules 40, 42 de différentes tailles, les unes ayant par exemple une taille ou un diamètre compris entre 600 nm ou 1  $\mu\text{m}$  et  
10 1,5  $\mu\text{m}$  ou 100  $\mu\text{m}$ , les autres une taille ou un diamètre de l'ordre de 250 nm, ou compris entre 100nm et 500 nm. Ces cellules sont amenées au voisinage du guide avec, par exemple, une pipette ou un capillaire. L'ensemble baigne dans un milieu liquide 41, par exemple de l'eau.

15 Le rayonnement injecté a une longueur d'onde comprise entre le proche ultra-violet et l'infra-rouge, par exemple comprise entre 300 nm et 1200 nm. Pour des particules ou des cellules biologiques, on utilisera de préférence des longueurs  
20 d'onde dans l'infra-rouge, par exemple la longueur d'onde 1064 nm d'un laser YAG. La puissance injectée peut être, en continu, de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de mW, par exemple comprise entre 50 mW et 1 W, par exemple voisine de 150 mW.

25 Les particules 40, les plus grosses, peuvent avoir, à la longueur d'onde utilisée, un indice optique voisin de celui des particules 42. Dans ce cas, les deux types de particules subiront un effet de diffusion du rayonnement évanescent, d'autant plus  
30 important que les particules sont de taille importante.

Si, par contre, les particules 40 de plus grosse taille ont un indice voisin de celui du milieu ambiant, alors que les particules 42 de petite taille ont un indice qui, pour la longueur d'onde utilisée, présente une différence plus importante avec le milieu ambiant que les cellules 40, alors ce sont les particules les plus petites qui seront en général déplacées plus vite.

Dans le domaine infra-rouge, les cellules vivantes ou les particules biologiques ont un indice (environ 1,37 pour le cytoplasme, 1,39 pour le noyau, 1,42 pour les mitochondries comme indiqué dans l'article de A.Dunn et al., IEEE Journal of selected topics in quantum electronics, Vol.2, No4, 1996, P. 898 - 905) voisin de celui de l'eau (environ 1,33), tandis que des particules d'or, plus petites, ont un indice beaucoup plus faible (environ 0,3 à la longueur d'onde de 1064 nm) et présentent une absorption élevée (la partie imaginaire de l'indice étant approximativement de 7 à la longueur d'onde précitée). Avantageusement, les cellules 40 sont donc, comme illustré sur la figure 4, marquées avec des particules 42, ce qui permet d'augmenter la différence d'indice optique entre l'ensemble constitué par chaque cellule et ses particules de marquage, et son environnement. Ce dernier est par exemple un liquide tel que l'eau (indice environ 1,33). Pour des applications biologiques ce liquide peut aussi être une solution tampon ou un milieu de suspension cellulaire, dont l'indice est aussi voisin de 1,33.

Pour des cellules biologiques, on peut utiliser, au lieu de petites particules 42 d'or, des particules de polymère, ou de tout matériau sur lequel on peut greffer des objets biologiques : là encore ces  
5 particules sont plus petites que les cellules, ont un indice plus éloigné de l'indice d'un milieu tel que l'eau, et pourraient être utilisées comme marqueurs.

Comme les rendements de marquage ne sont pas égaux à 1, certaines billes 42 ne sont pas fixées  
10 sur des cellules. Ces billes libres peuvent être gênantes dans toute opération ultérieure.

Une zone de couplage, de longueur  $L$ , permet de coupler, dans le guide 22, une partie d'un rayonnement 30, injecté dans le guide 20. La taille  $L$  de la zone d'interaction est de préférence telle que la  
15 plus grande partie de la lumière parte dans le guide 22 du fait du couplage. Pratiquement,  $L$  est de l'ordre de quelques dizaines de micromètres, par exemple  $L$  est compris entre  $10\ \mu\text{m}$  et  $50\ \mu\text{m}$ .

20 Le couplage est assuré par une distance  $d$ , entre les deux guides, inférieure à quelques micromètres dans la zone de couplage. Cette distance dépend en fait de la longueur d'onde. Mais, pour des longueurs d'onde voisines de  $1\ \mu\text{m}$ , on peut prendre  
25  $d < 1\ \mu\text{m}$ , ou par exemple compris entre  $500\ \text{nm}$  et  $5\ \mu\text{m}$ .

La zone de couplage produit une perturbation du profil de l'intensité lumineuse à la surface des guides.

La figure 5A représente la situation avant  
30 le couplage : on voit sur cette figure le profil de

l'onde évanescente , localisée principalement au-dessus du guide 20, ainsi qu'une cellule 40 et une bille 42.

Le couplage entraîne une redistribution de l'intensité lumineuse entre les deux guides, au profit du guide 22. La cellule 40 est alors entraînée vers ce guide 22 , comme indiqué par la flèche 44. Si sa différence d'indice avec le milieu ambiant est faible, elle sera d'autant mieux entraînée qu'elle sera marquée avec des billes 42 dont l'indice optique, pour la longueur d'onde utilisée, présente une différence plus importante avec le milieu ambiant que les cellules 40.

Une séparation des particules ou des objets s'opère alors en fonction de leurs tailles. Les plus petites particules restent sur le guide 20, même si leur vitesse est moins forte, les forces de gradient les maintenant confinées au-dessus du guide 20.

Par contre les plus grosses particules, comme les cellules 40 , ainsi que les billes qui les marquent, voient le « super mode » induit par le couplage et vont rechercher une nouvelle position d'équilibre, qui les amène préférentiellement vers le guide 22.

On réalise ainsi un tri de particules en fonction de leur taille. Puis les particules sont entraînées par le rayonnement de chaque guide hors de la zone de couplage.

De la même manière on réaliserait un tri entre des grosses particules et des petites particules, si ces deux types de particules avaient un indice

Un procédé de réalisation d'un guide va maintenant être décrit, en liaison avec les figures 6A à 7.

Tout d'abord (figure 6A), sur une surface  
5 140 de verre sont déposées, dans l'ordre, une couche  
d'aluminium 142 (obtenue par évaporation ou  
pulvérisation par exemple), puis une couche 144 de  
résine photosensible (dépôt à la tournette « Spin  
Coating »). Un masque 146 de lithographie en chrome est  
10 mis alors en contact sous vide avec la couche de  
résine. Le masque représente le négatif du motif final  
(la structure guidante).

Puis le masque est éclairé à l'aide d'un  
rayonnement 148 incohérent dont la longueur d'onde  
15 centrale se situe, par exemple, autour de 350 nm, et  
pour laquelle la résine est photosensible. La partie  
qui n'est pas cachée par le masque voit sa structure  
chimique modifiée.

La plaque est ensuite trempée dans une  
20 solution qui va « développer » la résine 144. Ainsi,  
les zones dans lesquelles la structure chimique a été  
modifiée par l'insolation sont gravées (figure 6B).

La plaque est ensuite plongée dans une  
solution de gravure de l'aluminium (AluEtch). Cette  
25 solution n'attaque pas la résine. Ainsi, seules les  
parties développées précédemment sont gravées (figure  
6C).

Enfin, la résine est dissoute à l'acétone.  
Seul le motif 150 reste sur la plaque.

30 Le guide est ensuite formé par échange  
d'ions.



La plaquette est plongée dans un bain de sels contenant du nitrate d'argent et du nitrate de sodium. La proportion entre ces sels détermine la teneur en argent qui s'échange dans le verre 140. le  
5 bain contient généralement entre 10% et 50% d'argent suivant l'application. La température de fusion des sels étant d'environ 310°C, l'étape d'échange est effectuée entre 320°C et 350°C.

Le masque d'aluminium est ensuite réalisé  
10 par gravure. On peut éventuellement réaliser un recuit : la plaque de verre est chauffée sans aucun contact avec un bain. Cette étape permet de faire pénétrer plus profondément les ions d'argent vers l'intérieur de la plaquette de verre.

15 On peut de cette manière former deux guides 20, 22 tels ceux de la figure 1.

On peut aussi mettre en oeuvre d'autres procédés, par exemple pour réaliser des guides sur un substrat en silicium.

20 Afin de réduire des effets de freinage sur les particules, du fait d'un frottement contre la surface supérieure du guide, on peut revêtir celui-ci d'un revêtement spécial, par exemple une fine couche de téflon.

25 Un exemple d'application peut être décrit dans le domaine de la biologie.

Dans un échantillon cellulaire hétérogène, on cherche à isoler une certaine sous population caractérisée par un phénotype spécifique, par exemple  
0 la croissance. Une certaine étape de l'analyse de

ailleurs, on dispose de molécules sondes, comme des anticorps, capables de reconnaître et de se lier avec une très forte affinité à ces marqueurs phénotypiques. Dans le cas de molécules sondes de type anticorps, les marqueurs phénotypiques sont appelés des antigènes. Par des moyens connus de l'homme de l'art, les anticorps sont fixés à des billes choisies pour leurs caractéristiques particulières, par exemple des billes d'or. Ces billes d'or fonctionnalisées sont ensuite greffées sur la surface des cellules, ces dernières peuvent, par exemple, être des lymphocytes isolés du sang et que l'on souhaite tirer.

Les cellules marquées sont déposées dans une chambre, sur la puce (par dispositif de focalisation intégré au capot, par exemple). La chambre est par exemple un dispositif du type Gene Frame<sup>®</sup> (Abgene<sup>®</sup>). Cette petite chambre autocollante, très simple, possède un système de jointure imperméable au gaz, permet une résistance à des températures jusqu'à 97°C et prévient la perte de réactif due à l'évaporation. Elle est habituellement utilisée pour des procédures d'hybridation et d'amplification in situ en biologie.

La lumière laser est injectée dans le guide de la longueur choisie est située dans le rouge lointain/proche infrarouge, une région spectrale de transparence biologique qui permet d'assurer la viabilité des cellules après traitement ; (il n'y a pas d'absorption de la part des molécules biologiques, ni de l'eau).

Le tri entre cellules et billes non fixées s'effectue comme décrit ci-dessus.

Les cellules marquées sont déplacées jusqu'à une fenêtre d'analyse/récupération. La  
5 récupération des particules biologiques peut se faire, par exemple par des moyens fluidiques (récupération par un capillaire) ou plus classique (récupération à la pipette au niveau d'une chambre de récupération adaptée à la taille du cône).

10 D'une manière générale, des moyens d'observation peuvent être prévus, par exemple une caméra CCD positionnée au-dessus des guides. Ces moyens vont permettre une surveillance du tri opéré de la manière décrite ci-dessus.

15 La figure 8 représente un système de tri incorporant un système de guides selon l'invention. Un objectif 162 permet la focalisation d'un faisceau laser 161 (par exemple un YAG à 1064 nm) dans un guide 20. Les particules à trier sont contenues dans une chambre  
20 172 disposée sur une lame 174. Un deuxième guide d'ondes 22 est disposé comme déjà décrit ci-dessus de manière à créer une zone de couplage entre les deux guides. Une caméra 160 permet de réaliser une image de la zone de séparation, par exemple par l'intermédiaire  
25 d'un dispositif de focalisation ou d'un zoom 170. En sortie du dispositif peuvent être également disposés des moyens 176, 178 (objectif, caméra) pour former une image du rayonnement transmis.

L'invention s'applique non seulement au tri de cellules marquées, mais aussi à d'autres domaines.

par exemple à la calibration de billes ou de microbilles, notamment en latex ou en or.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de séparation de particules (40, 42) de tailles différentes, baignant dans un liquide, ce procédé comportant :

- l'introduction d'un rayonnement (30), dans un guide d'onde (20), couplé à un deuxième guide dans une zone de couplage, ce rayonnement permettant d'entraîner l'ensemble des particules vers la zone de couplage,

- la séparation des particules, lors de leur passage dans la zone de couplage.

2. Procédé selon la revendication 1, les deux guides étant séparés, dans la zone de couplage, par une distance inférieure à 5  $\mu\text{m}$ .

3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, la zone de couplage ayant une longueur comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$ .

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, les particules étant des cellules ou des macromolécules ou des microbilles.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, le rayonnement introduit étant dans un domaine spectral compris entre le proche ultra-violet et l'infrarouge.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, les particules étant des microbilles, et des cellules marquées de microbilles, et le rayonnement étant situé dans le domaine infra-rouge.

5

7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, les particules ayant un diamètre compris entre d'une part 100 et 500 nm, et d'autre part entre 600 nm et 1,5  $\mu\text{m}$  ou entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$ .

10

8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, le liquide dans lequel baignent les particules étant de l'eau ou un milieu de suspension cellulaire.

15

9. Dispositif de séparation de particules, comportant deux guides optiques (20, 22) couplés par une zone de couplage de longueur comprise entre 10 et 50  $\mu\text{m}$ , dans laquelle la distance entre les guides est inférieure à 5  $\mu\text{m}$ .

20

10. Dispositif selon la revendication 9, comportant en outre des moyens (162) pour envoyer dans un des guides un rayonnement de longueur d'onde comprise entre 300 nm et 1,2  $\mu\text{m}$ , ou entre 1  $\mu\text{m}$  et 1,2  $\mu\text{m}$ .

25

11. Dispositif selon la revendication 9 ou 10, comportant en outre des moyens (160, 170) de visualisation pour visualiser une séparation de particules.

30

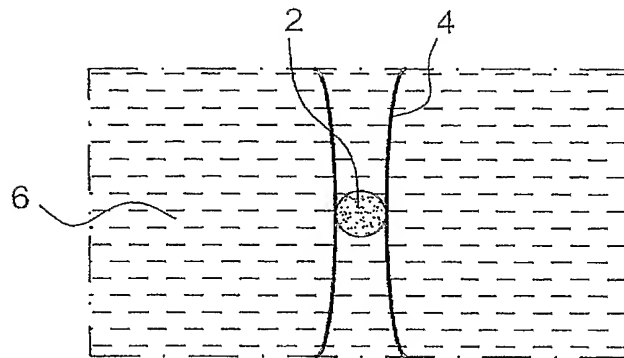


FIG. 1

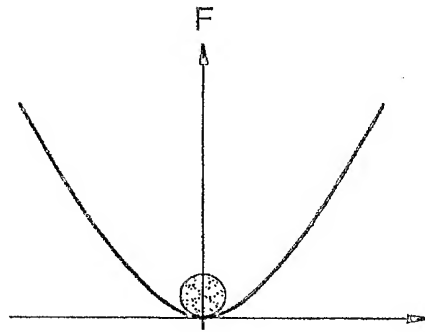
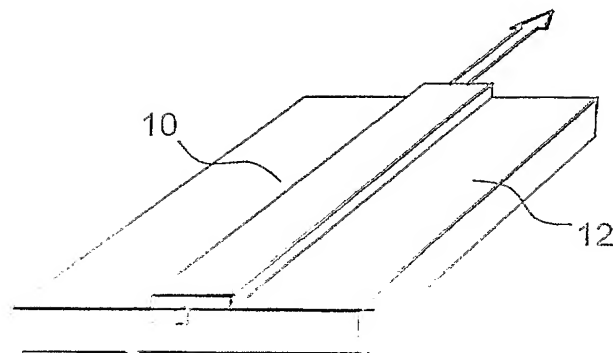


FIG. 2



2 / 4

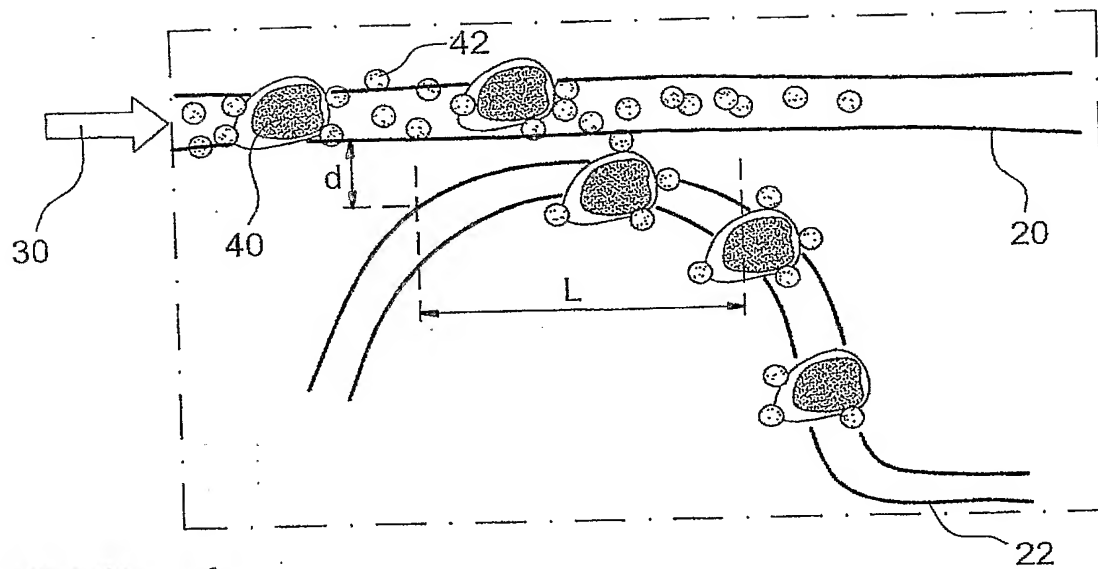


FIG. 4

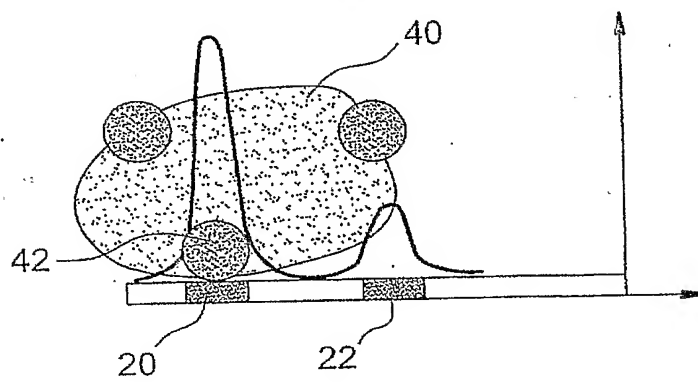


FIG. 5A

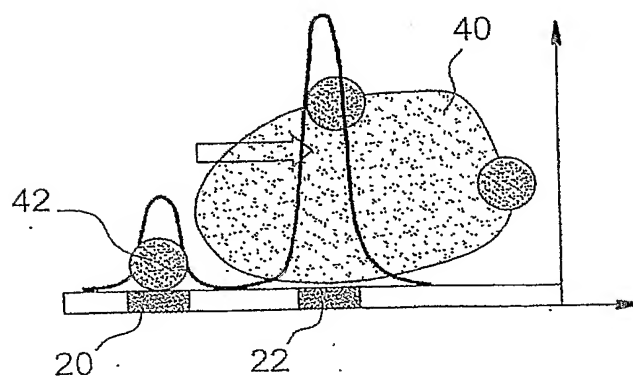


FIG. 5B



3 / 4

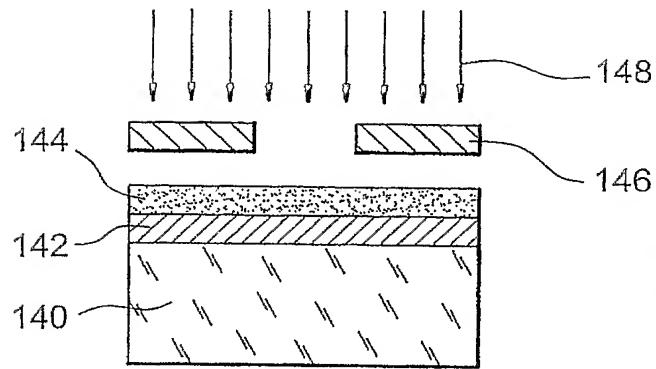


FIG. 6A

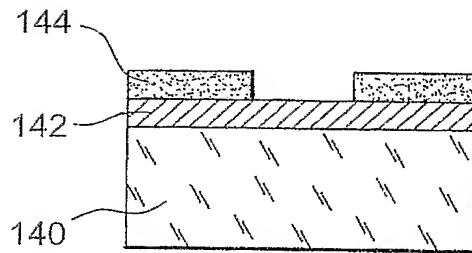


FIG. 6B

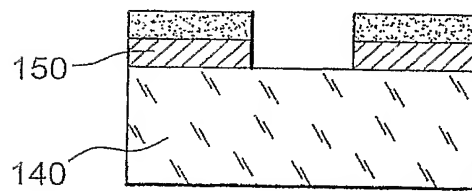
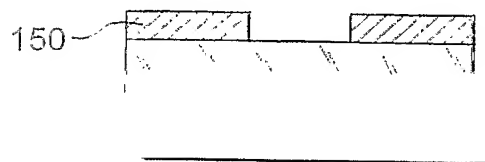


FIG. 6C



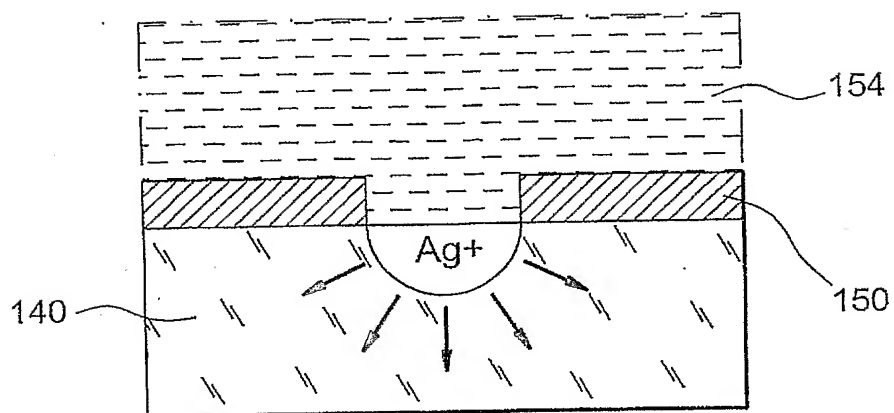


FIG. 7

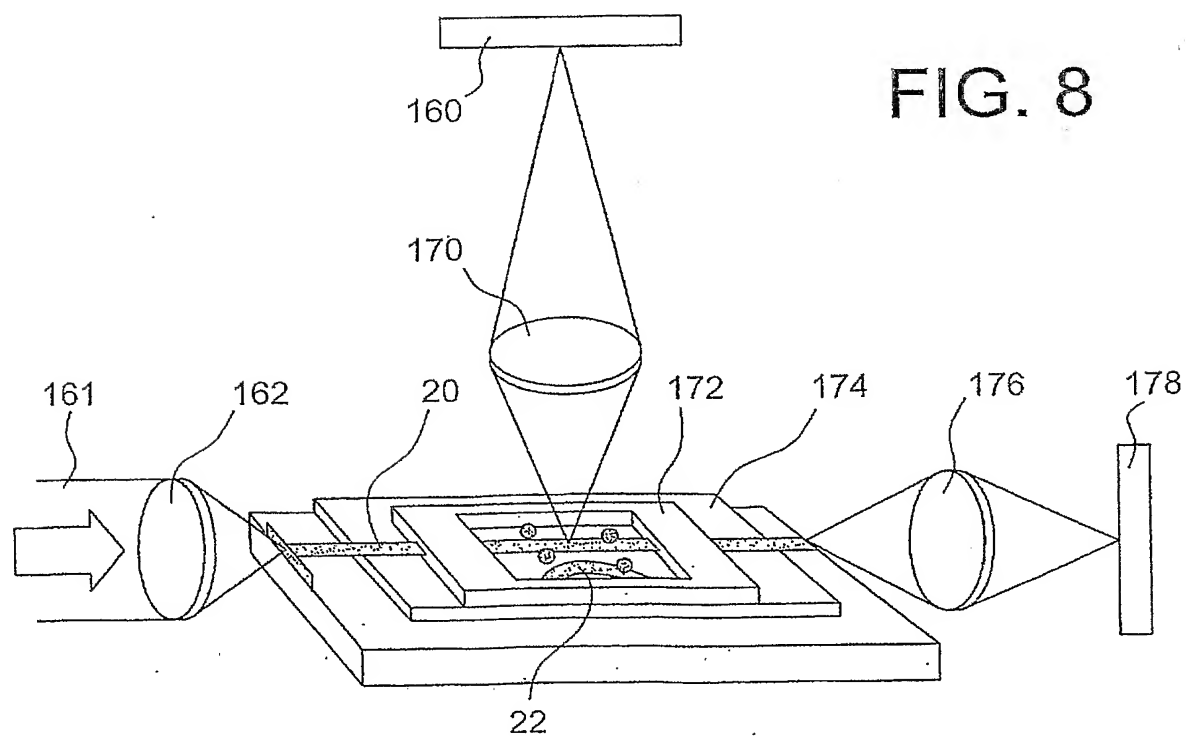


FIG. 8



## BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

### Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	B 14552 PM-DD2667YL
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION	
	DISPOSITIF DE SEPARATION D'OBJETS PAR VOIE OPTIQUE.
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	GETIN
Prénoms	Stéphane
Rue	41, rue des Eaux Claires
Code postal et ville	38100 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	FUCHS
Prénoms	Alexandra
Rue	Le Bressot
Code postal et ville	38470 BEAULIEU
Société d'appartenance	
Inventeur 3	
Nom	COLAS
Prénoms	Guillaume
Rue	2 rue Raymond Bank
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 4	
Nom	GAUGIRAN
Prénoms	Stéphanie
Rue	6 rue Vicat
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

**Signé par**

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

**Fonction**

Mandataire agréé (Mandataire 1)



2000

